

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



Docket No. 1232-5069

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant(s): Masahiro Kawaguchi

Group Art Unit: 1645

Serial No.: 10/602,464

Examiner: TBA

Filed: June 23, 2003

For: NUCLEIC-ACID PROBE SUBSTRATE SYSTEM FOR TEMPERATURE
CONTROL OF THE SUBSTRATE, AND GENE DETECTION METHOD MAKING
USE OF THE SAME

CLAIM TO CONVENTION PRIORITY

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

In the matter of the above-identified application and under the provisions of 35 U.S.C. §119 and 37 C.F.R. §1.55, applicant(s) claim(s) the benefit of the following prior application(s):

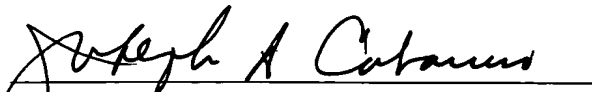
Application(s) filed in: JAPAN
In the name of: Canon Kabushiki Kaisha
Serial No.: 2002/183,247
Filing Date: June 24, 2002

☒ Pursuant to the Claim to Priority, applicant(s) submit(s) a duly certified copy of said foreign application.

Respectfully submitted,
MORGAN & FINNEGAN, L.L.P.

Dated: January 14, 2004

By:


Joseph A. Calvaruso
Registration No. 28,287

Correspondence Address:
MORGAN & FINNEGAN, L.L.P.
345 Park Avenue
New York, NY 10154-0053
(212) 758-4800 Telephone

CF017339
VS
/sug

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 6 月 2 4 日
Date of Application:

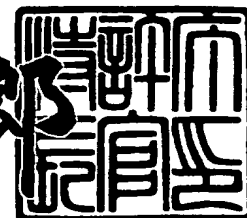
出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 1 8 3 2 4 7
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 1 8 3 2 4 7]

出 願 人 キヤノン株式会社
Applicant(s):

2 0 0 3 年 7 月 1 0 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 5 5 5 2 4

【書類名】 特許願

【整理番号】 4629090

【提出日】 平成14年 6月24日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/10
G01N 33/50

【発明の名称】 核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置、及び、これを用いた遺伝子検出方法

【請求項の数】 11

【発明者】

【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会社内

【氏名】 川口 正浩

【特許出願人】

【識別番号】 000001007

【氏名又は名称】 キヤノン株式会社

【代理人】

【識別番号】 100088328

【弁理士】

【氏名又は名称】 金田 暢之

【電話番号】 03-3585-1882

【選任した代理人】

【識別番号】 100106297

【弁理士】

【氏名又は名称】 伊藤 克博

【選任した代理人】

【識別番号】 100106138

【弁理士】

【氏名又は名称】 石橋 政幸

【手数料の表示】**【予納台帳番号】** 089681**【納付金額】** 21,000円**【提出物件の目録】****【物件名】** 明細書 1**【物件名】** 図面 1**【物件名】** 要約書 1**【プルーフの要否】** 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置、及び、これを用いた遺伝子検出方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板に対して、遺伝子検出操作中、該検体及び該基板の温度制御を行う核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の背面に対して、基板背面と挟着される良熱伝導性材料と、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段と、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段とを具え、

前記良熱伝導性材料の温度制御を介して、挟着される前記基板の温度制御を行う機能を有することを特徴とする核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置。

【請求項 2】 ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板に対して、遺伝子検出操作中、該検体及び該基板の温度制御を行う核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の表面に対して、前記検体供給用の間隙を空けて、該基板表面と対面させて接触、設置される良熱伝導性材料と、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段と、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段とを具え、

前記良熱伝導性材料の温度制御を介して、該良熱伝導性材料と接触を有する、前記間隙に供給される検体ならびに前記基板表面の温度制御を行う機能を有する

ことを特徴とする核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置。

【請求項 3】 該良熱伝導性材料は、金属、樹脂のいずれか、または、これら二種以上を複合することによって形成されていることを特徴する請求項 1 又は 2 に記載の装置。

【請求項 4】 ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子 DNA を検出するため、該目的遺伝子 DNA の塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板を検出手段として利用して、遺伝子を検出する方法であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の背面に対して、基板背面と挟着される良熱伝導性材料を配置し、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段を配置し、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段を設け、

遺伝子検出操作中、前記手段に基づく良熱伝導性材料の温度制御を介して、挟着される前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御を行いつつ、検出操作を行うことを特徴とする遺伝子検出方法。

【請求項 5】 遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記加熱手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】 遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記冷却手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】 基板と、該基板表面と接する検体の温度制御に利用する、前記良熱伝導性材料として、金属、樹脂のいずれか、または、これらの二種以上を複合することによって形成される前記良熱伝導性材料を使用することを特徴とする請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】 ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子 DNA を検出するため、該目的遺伝子 DNA の塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板を検出手段として利用して、遺伝子を検出する方法であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の表面に対して、前記検体供給用の間隙を空けて、該基板表面と対面させて接触、設置される良熱伝導性材料を配置し、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段を配置し、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段を設け、

遺伝子検出操作中、前記手段に基づく良熱伝導性材料の温度制御を介して、該良熱伝導性材料と接触を有する、前記間隙に供給される検体ならびに前記基板表面の温度制御を行いつつ、検出操作を行うことを特徴とする遺伝子検出方法。

【請求項 9】 遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記加熱手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記冷却手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】 基板と、該基板表面と接する検体の温度制御に利用する、前記良熱伝導性材料として、金属、樹脂のいずれか、または、これらの二種以上を複合することによって形成される前記良熱伝導性材料を使用することを特徴とする請求項 8 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、核酸プローブ基板を用いた遺伝子の検出、測定に利用される装置に関し、より具体的には、ハイブリダイゼーション法により遺伝子DNAの検出、測定を行う際、核酸プローブとして一本鎖核酸複数種をアレイ状に固定化した基板に対して、所望の温度条件において、検体試料と各核酸プローブとの接触を達成する機能を有する装置、ならびに該装置を利用して、遺伝子核酸の検出、測定を行う方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

ハイブリダイゼーション法に基づく、遺伝子DNAの検出、測定法の発展として、基板上に複数種の核酸プローブを固定し、検体試料中に含有される遺伝子DNAに対して、同時に複数の検出試験を行う用途を有する、遺伝子チップ（DNAチップ、マイクロアレイ）に関する研究が近年急速に進んでいる。かかる遺伝子チップ（DNAチップ、マイクロアレイ）を利用する検体試料中に含有される遺伝子DNAの検出、測定法は、分子生物学研究、遺伝子疾患、感染症診断など様々な分野での応用が期待されている。

【0003】

遺伝子チップの基本形態は、ハイブリダイゼーション法に基づき、目的とする遺伝子DNAを検出するため、目的遺伝子の塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片複数種を、ガラスなどの基板表面にアレイ状に固定化したものである。目的遺伝子に対して、ハイブリダイゼーション・プローブとして利用される、相補的な塩基配列を持つ一本鎖核酸断片は、オリゴDNAと呼ばれる、化学合成されたDNAオリゴマーや、cDNAと呼ばれる、生物組織由来の遺伝子を鋳型として、酵素的に生合成された相補鎖DNA断片などが、一般的に利用される。一本鎖核酸断片の基板表面への固定化に関しては、オリゴDNAでは、例えば、US 5,474,796（または、特表平9-500568号公報、出願人：ProtoGene Laboratories）に記載される方法のように、予め末端を固定した上で、DNA分子自体を基板上で逐次合成し、固定化された核酸断片とする方法と、例えば、特開平11-187900号公報（出願人：キャノン株式会社）に記載される方法のように、オリゴDNAを別途合成した後、種々の結

合手段を利用して、核酸断片を基板上に固定化する方法とに大別される。

【0004】

別途調製した核酸断片を、基板上へ固定化する手段として、様々な方式、例えば、基板の持つ電荷と核酸断片の電荷を利用した吸着固定法、また、ポリーレーリジン、アミノシランカップリング剤などを基板表面にコートし、このコート被膜を利用して固定効率の向上を図った固定法などが提案されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

一方、基板上へに固定化されている核酸プローブに対する交雑反応（ハイブリダイゼーション反応）では、検体試料溶液中に含有される遺伝子DNAを一本鎖とした上で、核酸プローブの塩基配列と相補的な部分とを結合させ、二本鎖構造を形成させる。そのため、核酸プローブと検体試料溶液とを所定の温度に加熱する必要がある。加えて、核酸プローブの塩基配列に対して相補的な塩基配列ではないものの、類似する塩基配列を有する遺伝子DNAも、場合によっては、擬似交雑反応（ミスマッチ・ハイブリダイゼーション反応）を起こし、核酸プローブと緩やかな結合を形成する。さらには、塩基配列に類似性が無く、未反応の夾雑DNAも、物理的な吸着等により基板表面に付着することもある。これら弱く結合している、不要なDNA分子を選択的に除去するため、目的とする交雑反応を達成している遺伝子DNAの再解離は生じないものの、弱く結合している不要なDNA分子の脱離が進行する温度に加熱して、洗浄除去工程が行われる。

【0006】

遺伝子チップを用いた検出操作において、高い再現性で目的とする遺伝子DNAのみを検出する上では、特に、検体中の目的遺伝子と遺伝子チップ上に固定化された核酸（プローブ）の交雑反応工程における加熱温度、ならびに、擬似交雑反応を起こした類似遺伝子や未反応の夾雑物を選択的に除去する洗浄工程における加熱温度を、高い精度で制御することが必要である。また、一般に、各工程間での温度変動は、検出結果の再現性に大きな影響を及ぼす。

【0007】

この各工程間での温度変動に起因する、検出精度、再現性の低下を抑制する手

段が、幾つか提案されている。例えば、特開 2000-342264 号公報に記載されているポリヌクレオチド検出チップ及びポリヌクレオチド検出装置は、検体中に含まれる目標とする遺伝子と相補的な配列を持つ核酸断片（プローブ）の種類毎に区画を設定し、検出チップの区画毎に微小ヒーターを設けることで、適正な温度制御を行う方式を採用している。この方式では、装置構成が非常に複雑となり、専用の検出用チップ、また検出装置全体も高価なものとならざるを得ない。加えて、区画毎に微小ヒーターを設けることに伴い、全体装置の小型化も困難である。

【0008】

また、特開 2001-255328 号公報に記載されているハイブリダイゼーション反応検出方法及び検出装置では、反応中の経時変化を追跡することで、ガラス基板上に形成されたアレイの温度変化の影響を排除して、高い精度の検出を目指してしている。しかしながら、この手法では、反応を行っている間、顕微鏡等の装置を用いて1枚のアレイを継続的に追跡検査する必要があり、多数のアレイ基板を検査するのは困難である。

【0009】

また、GeneChip（Affymetrix社製）に代表される独自の形状にパッケージングされた遺伝子チップも市販されている。これら市販の遺伝子チップは、対応する専用装置を利用した検出操作を前提とした遺伝子チップであり、従って、汎用性に乏しいものである。また、専用装置のみならず、遺伝子チップ自体も非常に高価である。

【0010】

一方、大学等の研究用途では、個々の用途に適合させて、独自で多様な検出用核酸断片を固定化したチップの作製が必要となる。そのため、ピン・スポッターと呼ばれるアレイ作製装置を用いて、ポリ-L-リジン等の表面処理したスライドガラス基板上に、核酸断片を固定する方法が一般的に利用されている。この方法で作製される、汎用のスライドガラス基板上に作製された遺伝子チップは、外見上は単純なガラス板であり、勿論、温度制御のための工夫は何ら施されていない。

【0011】

例えば、前記研究用途で利用される、汎用のスライドガラス基板上に作製された遺伝子チップを用いる際にも適用でき、遺伝子チップ全体の温度を高い再現性・均一性で制御することが可能な温度制御手段を具え、また、全体として、低コストで高い汎用性を持つ検出装置の開発が望まれている。

【0012】

本発明は前記の課題を解決するもので、本発明の目的は、多様な用途に使用される汎用性の高い遺伝子チップに適用可能であり、加えて、遺伝子チップ全体の温度を高い再現性・均一性で制御することが可能な温度制御手段を具え、さらには、低コスト性をも満足する、核酸プローブ基板を用いた遺伝子の検出、測定に利用される装置、ならびに、該装置を利用して、遺伝子核酸の検出、測定を行う方法を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、前記の課題を解決すべく鋭意研究を進めたところ、遺伝子チップ全体の温度を高い再現性・均一性で制御する上で、この遺伝子チップの作製に利用されるスライドガラス基板自体は、熱伝導性が必ずしも高くなく、そのため、局所的な温度分布の不均一さを引き起こす要因ともなっていることを見出した。この知見に基づき、更なる検討を行った結果、良熱伝導性材料をスライドガラス基板の背面に挟着して、かかる良熱伝導性材料を介して、面内方向の熱拡散を効果的に行うとともに、この良熱伝導性材料を加熱手段もしくは冷却手段と直接接触させ、良熱伝導性材料自体の温度を制御すると、挟着されているスライドガラス基板の全体も、温度不均一さが無く、且つ高い精度で所望の温度に保持できることを見出し、本発明者は、本発明を完成するに至った。

【0014】

すなわち、本発明のかかる核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置の第一の形態は、ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ

状に固定化した基板に対して、遺伝子検出操作中、該検体及び該基板の温度制御を行う核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の背面に対して、基板背面と挟着される良熱伝導性材料と、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段と、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段とを具え、

前記良熱伝導性材料の温度制御を介して、挟着される前記基板の温度制御を行う機能を有することを特徴とする核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置である。また、本発明のかかる核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置の第二の形態は、ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板に対して、遺伝子検出操作中、該検体及び該基板の温度制御を行う核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の表面に対して、前記検体供給用の間隙を空けて、該基板表面と対面させて接触、設置される良熱伝導性材料と、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段と、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段とを具え、

前記良熱伝導性材料の温度制御を介して、該良熱伝導性材料と接触を有する、前記間隙に供給される検体ならびに前記基板表面の温度制御を行う機能を有することを特徴とする核酸プローブ・アレイ基板の温度制御装置である。その際、該良熱伝導性材料は、金属、樹脂のいずれか、または、これら二種以上を複合することによって形成されていることが好ましい。

【0015】

さらに、本発明は、かかる核酸プローブ・アレイ基板の温度制御手段を利用して、遺伝子を検出する方法をも提供し、すなわち、本発明にかかる遺伝子検出方

法の第一の形態は、

ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板を検出手段として利用して、遺伝子を検出する方法であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の背面に対して、基板背面と狭着される良熱伝導性材料を配置し、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段を配置し、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段を設け、

遺伝子検出操作中、前記手段に基づく良熱伝導性材料の温度制御を介して、狭着される前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御を行いつつ、検出操作を行うことを特徴とする遺伝子検出方法である。その際、遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記加熱手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する方法とすることができる。あるいは、遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記冷却手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する方法とすることもできる。なお、基板と、該基板表面と接する検体の温度制御に利用する、前記良熱伝導性材料として、金属、樹脂のいずれか、または、これらの二種以上を複合することによって形成される前記良熱伝導性材料を使用することが好ましい。

【0016】

加えて、本発明にかかる遺伝子検出方法の第二の形態は、

ハイブリダイゼーション法に基づき、検体中に含有される目的とする遺伝子DNAを検出するため、該目的遺伝子DNAの塩基配列に対して、相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を含む核酸プローブ複数種を基板表面にアレイ状に固

定化した基板を検出手段として利用して、遺伝子を検出する方法であって、

前記一本鎖核酸断片複数種を基板表面にアレイ状に固定化した基板の表面に対して、前記検体供給用の間隙を空けて、該基板表面と対面させて接触、設置される良熱伝導性材料を配置し、

前記良熱伝導性材料と接触する加熱手段もしくは冷却手段を配置し、

前記加熱手段もしくは冷却手段と良熱伝導性材料との間を移動する熱量を制御し、良熱伝導性材料の温度を制御する手段を設け、

遺伝子検出操作中、前記手段に基づく良熱伝導性材料の温度制御を介して、該良熱伝導性材料と接触を有する、前記間隙に供給される検体ならびに前記基板表面の温度制御を行いつつ、検出操作を行うことを特徴とする遺伝子検出方法である。その際、遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記加熱手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する方法とすることができる。あるいは、遺伝子検出操作に含まれる、複数の工程において、前記基板と、該基板表面と接する検体の温度制御がなされ、

前記冷却手段を利用する温度制御手段によって、該複数の温度制御を要する工程の温度を順次制御することを特徴する方法とすることもできる。なお、基板と、該基板表面と接する検体の温度制御に利用する、前記良熱伝導性材料として、金属、樹脂のいずれか、または、これらの二種以上を複合することによって形成される前記良熱伝導性材料を使用することが好ましい。

【0017】

【発明の実施の形態】

以下に、本発明を、より詳細に説明する。

【0018】

具体的に本発明の特徴点を挙げると、検体中に含まれる目的遺伝子を検出するために目的遺伝子と相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を固定した基板全体を、所望の温度に制御する際、基板の背面、もしくは、検出用一本鎖核酸断片を固定化した面の対面に、熱伝導性に優れた材質を用いた構成される良熱伝導性

材料を、実質的に基板面全体を覆う、あるいは、狭着される形態で配置することで、基板面全体の面内方向の熱拡散を向上させ、加えて、かかる良熱伝導性材料を介して、熱の授受を行う温度制御手段とすることにある。

【0019】

この熱伝導手段に利用される良熱伝導性材料は、核酸プローブ・アレイ基板を作製する工程、特に、基板表面に検出用一本鎖核酸断片の固定化を行う工程の妨げにならないければ、検出用一本鎖核酸断片を固定化する工程に先立ち、基板の背面等と狭着されてもかまわない。また、良熱伝導性材料の狭着には、恒久的な接着等の手段を用いても、取り外しできるような構成をとっても問題ではない。但し、核酸プローブ・アレイ基板に利用されるスライドガラス基板と、基板面全面にわたり、緻密な熱的な接触、密着性は十分に達成できる形態とされなければならない。狭着方法の一例を示すと、例えば、検出用一本鎖核酸断片（以下プローブ）を固定化した基板（以下チップ）と良熱伝導性材料の間隙に、少量の粘着性ペーストを塗布して、このペースト薄膜層の粘着性を利用して、緻密に狭着させる方法がある。

【0020】

その際、この粘着性ペーストには、検出操作中の加熱・冷却（温度制御）に伴い、硬化、乾燥などを起こさない材質のものを選択する。また、ペースト薄膜層の層厚は、粘着性を発揮できる範囲内で極力薄く選択することが好ましい。すなわち、ペーストの量は極力少量とし、良熱伝導性材料と基板の背面等との間での熱伝導の妨げとならないように注意すべきである。仮に、利用するペースト自体に、良熱伝導性材料と遜色無い程度の、十分な熱伝導性が付与されている場合には、ペースト薄膜層の層厚は、極力薄くすることは好ましいものの、より厚い範囲に設定することもできる。

【0021】

上記の良熱伝導性材料とする、熱伝導手段の材質として、金属、樹脂などが挙げられる。より具体的には、利用可能な金属として、鉄、アルミニウム、銅、真鍮、ステンレスなどが挙げられる。これらの金属を利用する良熱伝導性材料は、ブロック状または板状の塊を用いることができる。さらには、フレーク状などの

細分材料を焼結させるなどして、均質な熱伝導性を示すものに形成したものを利用することもできる。また、熱伝導手段として利用される樹脂材料には、特に指定はないが、より高い熱伝導特性を示すものがより好ましく、例えば、粉末状の金属などを混入して熱伝導性能を補強することが望ましい。

【0022】

良熱伝導性材料とする、熱伝導手段の形状は、固形状の場合、基板の背面等と狭着される平坦面部は勿論であるが、この熱伝導手段と接触させる、加熱手段、または、冷却手段の形状に合わせて、良好な接触を可能とするように整形することが望ましい。すなわち、この熱伝導手段を介して、基板へと伝達される熱量は、基板表面に配置される、核酸プローブが固定されているチップのプローブ固定領域にムラなく熱伝導される形状とすることが望ましい。また、熱伝導手段は、必ずしも固形状態で使用する必要はなく、例えば、ペースト状、または、ガム状の流動性を持った状態での使用も可能である。

【0023】

以下、図を参照しつつ、本発明の代表的な実施形態を詳細に説明する。

【0024】

図1に、本発明に利用される、金属製の熱伝導ユニットの一例を示す。また、図2に、別の一例を示す。図1及び図2に示す熱伝導手段では、平坦な面を有する遺伝子チップ狭着面1に、遺伝子チップの基板背面を狭着する。一方、狭着面1の裏面側に設ける、脚部2は、加熱手段、または、冷却手段の形状に合わせて整形されている。かかる脚部2を利用して、温度制御手段（不図示）にセットする。本例では、市販されているヒートブロック装置やPCR（Polymerase Chain Reaction）用プログラマブルヒートブロック装置などを温度制御手段として利用する際、それらのヒートブロックにセットすることを想定した熱伝導ユニット形状を模式的に示した。すなわち、図1及び図2の脚部2は、ヒートブロックのマイクロチューブ挿入用の穴に挿入可能なように配置、形成されている。

【0025】

加熱手段、または、冷却手段との間での熱伝導性を高めるためには、脚部2の大きさは、ヒートブロックの挿入穴に密着できるものが望ましい。なお、ヒート

ブロックの熱膨張率、ならびに、例示される熱伝導ユニットを構成する金属材料が示す熱膨張率なども考慮して、その形状を設計しなければならない。その点を考慮に入れ、脚部2とヒートブロックの挿入穴との隙間を充填し、熱伝導性を補完するために、オイル等を使用することもできる。熱伝導ユニットの材質は、アルミニウムなどが比較的軽量で工作性にも優れるため好適に用いられる。図1及び図2に示す形状の熱伝導ユニットを樹脂で作製することも可能である。しかしながら、一般的に、金属材料と比較すると、樹脂は熱伝導性が劣り、その結果、チップの温度応答性は金属材料を用いた際より遅くなる不利がある。比較的密度の高いABS樹脂等は、テフロン樹脂等との比較では良好な特性を示すが、アルミニウムなどの金属との比較では、有意に熱伝導性は劣る。また、樹脂を熱伝導ユニットとして用いる際には、検出操作の際に要求される加熱温度を考慮し、繰り返し使用する場合においても、その加熱温度における十分な熱的耐性を示すものを利用することが望ましい。

【0026】

図3に示す更なる一例は、良熱伝導性材料として、ガム状熱伝導手段を用いた例である。本例で示すガム状の熱伝導手段は、チップの基板面と加熱手段、または、冷却手段の間に圧着することにより密着し、効率よく熱伝導を行う。図3に示す加熱手段、または、冷却手段は、マイクロチューブ等を対象としたヒートブロックタイプのものを例示した。この例では、マイクロチューブ等を穴に差し込んで壁面を通じて熱伝導を行う形態の加熱手段、または、冷却手段を利用する際、ガム状の熱伝導手段を穴内部にまで充填することで、熱伝達効率が向上する。

【0027】

利用するガム状の熱伝導手段は、適度な流動性を有していることが望ましい。但し、加熱、または、冷却に伴い、その流動性に著しい変化が現れるものは、熱伝達効率も変化する可能性が高く、多くの場合望ましくない。一般に、遺伝子検出操作において、遺伝子チップの温度は、数℃～95℃程度の範囲に設定されるため、この温度範囲で、流動性、可塑性を維持するものを選択することが好ましい。ガム状の熱伝導手段の材質は、上記の流動性要件を満たすとともに、極力、熱伝達効率の高いものを選択することが望ましい。

【0028】

図1から図3には、遺伝子チップのスライドガラス状基板の背面全体に、良熱伝導性材料として、熱伝導ユニット等を挟着する形態を例示したが、プローブを固定化したアレイの形状に応じて、利用する良熱伝導性材料（熱伝導手段）の形状、位置を調整することも可能である。

【0029】

【実施例】

以下に実施例を挙げて、本発明をより具体的に説明する。なお、これら実施例は、本発明にかかる最良の実施形態の一例ではあるものの、本発明は、これら実施例の形態に限定されない。

【0030】

(実施例1)

DNAプローブ・アレイの作製

〔1〕ガラス基板の洗浄

合成石英のガラス基板（サイズ：25mm×75mm×1mm、飯山特殊ガラス社製）を耐熱、耐アルカリ性のラックに入れ、所定の濃度に調製した超音波洗浄用の洗浄液に浸した。一晚、洗浄液中に浸した後、20分間超音波洗浄を行った。続いて、基板を取り出し、軽く純水で漱いだ後、超純水中で20分超音波洗浄をおこなった。次に、80℃に加熱した1N水酸化ナトリウム水溶液中に10分間基板を浸した。再び純水洗浄と超純水洗浄を行い、DNAチップ用の洗浄済石英ガラス基板を用意した。

【0031】

〔2〕表面処理

シランカップリング剤；KBM-603（信越シリコン社製）を、濃度1wt%となるように、純水中に溶解させ、2時間室温で攪拌した。続いて、洗浄済ガラス基板をシランカップリング剤水溶液に浸し、20分間室温で放置した。ガラス基板を引き上げ、軽く純水で基板表面を洗浄した後、基板の両面に窒素ガスを吹き付けて乾燥させた。次に、乾燥した基板を120℃に加熱したオーブン中で1時間ベークし、表面のカップリング剤処理を完結させた。このアミノシラン

カップリング剤処理に伴い、基板表面にアミノ基が導入される。

【0032】

一方、同仁化学研究所社製のN-マレイミドカプロイロキシスクシイミド (N-(6-Maleimidocaproyloxy)succinimido、以下、EMCSと略す) を、ジメチルスルホキシドとエタノールの1:1 (体積比) 混合溶媒中に最終濃度が0.3mg/mlとなるように溶解したEMCS溶液を用意した。ベークの終了後、ガラス基板を放冷し、次いで、調製したEMCS溶液中に室温で2時間浸した。この処理により、シランカップリング剤処理によって表面に導入されたアミノ基と、EMCSのスクシイミド基とが反応し、基板表面にEMCSに由来するマレイミド基が導入される。EMCS溶液から引き上げたガラス基板を、先述のジメチルスルホキシドとエタノールの混合溶媒を用いて洗浄する。さらに、エタノールにより洗浄した後、表面処理を施したガラス基板を窒素ガス雰囲気下で乾燥させた。

【0033】

[3] プローブDNAの合成

定法に従って、5'末端にスルファニル基による修飾を施した、下記塩基配列を有する18merのプローブDNAオリゴマー3種を合成した。

【0034】

配列番号1:

5' HS-(CH₂)₆-O-PO₂-O-ACTGGCCGTCGTTTTA
CA 3'

配列番号2:

5' HS-(CH₂)₆-O-PO₂-O-ACTGGCCATCGTTTTA
CA 3'

配列番号3:

5' HS-(CH₂)₆-O-PO₂-O-ACTGGCAATCGTTTTA
CA 3'

【0035】

合成後、DNAオリゴマーを高速液体クロマトグラフィーにより精製し、その

後、脱塩、乾燥して、以下の実験に用いた。

【0036】

[4] BJプリンターによるDNAプローブ吐出、および基板への結合
予め、グリセリン7.5wt%、チオジグリコール7.5wt%、尿素7.5wt%、アセチレノールEH（川研ファインケミカル社製）1.0wt%を含む水溶液を用意した。続いて、合成した配列番号1の一本鎖DNAを、最終濃度が50マイクログラム/mlとなるように、上記の水溶液に溶解した。得られたDNA溶液を、バブルジェット・プリンター（商品名：BJF-850 キヤノン社製）用インクタンクに充填し、印字ヘッドに装着した。

【0037】

なお、ここで使用するバブルジェット・プリンターは、平板への印刷が可能ないように改造を施したものである。また、このバブルジェット・プリンターは、所定のファイル作成方法に従って印字パターンを入力することにより、対応するパターンにインクドットの吐出を行い、約5ピコリットルのDNA溶液を約120マイクロメートルピッチでスポッティングすることが可能となっている。

【0038】

続いて、この改造バブルジェット・プリンターを用いて、1枚の表面処理済ガラス基板に対して、配列番号1～3の各プローブをそれぞれ縦12個、横4個のマトリックス状に合計144個のスポットをスポッティングした。目的とするスポット印字が行われていることを確認した後、30分間加湿チャンバー内に静置して、ガラス基板表面のマレイミド基とDNAプローブ5'末端のスルファニル基とを反応させた。

【0039】

[5] 洗浄

30分間の反応後、100mMのNaClを含む10mMのリン酸緩衝液（pH7.0）により表面に残ったDNA溶液を洗い流し、ガラス基板表面にマトリックス状にスポットされた一本鎖DNAが固定した遺伝子チップ（DNAプローブ・アレイ基板）を得た。

【0040】

アルミニウム製熱伝導ユニットの作製

図1に示す形状の熱伝導ユニットを、アルミニウムブロックから切削加工で作製した。作製した熱伝導ユニットのサイズは、遺伝子チップとの狭着面は、27 mm×85 mm×1.5 mm、脚部は、 $\phi 10$ mm × 25 mmの円筒形とした。脚部の取り付けピッチは、16 mmとして、狭着面の裏面側に計4本をセットした。狭着面の四隅には、後述する送液用カバーを固定するため、ボルト受穴を設けた。

【0041】

送液用カバーの作製

遺伝子チップ表面のプローブ固定面に検体溶液、洗浄液を送液するために使用する送液用カバーを、アクリル樹脂を用いて作製した。プローブ固定面と送液用カバーの内面との間に所定の間隙を維持するため、0.5 mm厚のスペーサーを設け、この間隙部を液室とした。送液用カバーと遺伝子チップのプローブ固定面の接点は、シリコンゴムのパッキンを用いて密閉する。送液用カバーの外面側に、内径1 mmの液導入口、排出口をそれぞれ設けた。送液用カバーの固定は、送液用カバーの四隅に固定用ボルトを通すの穴を設け、上記の熱伝導ユニットの狭着面四隅に設けてあるねじ穴と対応させ、固定用ボルトによるボルト留めとする。

【0042】

また、外面側の液導入口には、シリコンゴムチューブを接続し、これをチューブポンプにセットした。排出口にも、シリコンゴムチューブを接続し、廃液ボトルへと接続した。

【0043】

遺伝子チップの装着

遺伝子チップと、熱伝導ユニット、送液用カバーを、下記する手順でセットアップした。

【0044】

まず、熱伝導ユニットの遺伝子チップとの狭着面に、耐熱性シリコングリスを薄く塗布した後、遺伝子チップの背面を圧着した。圧着の際、グリスと遺伝子チ

チップ背面との密着性を高めるため、気泡の侵入を生じないように注意した。続いて、送液用カバーを遺伝子チップ表面側、プローブ固定面を覆うように被せ、4本の固定用ボルトによる付加荷重が均一となるように留意しながら締め込み、送液用カバーを固定した。

【0045】

遺伝子チップ、熱伝導ユニット、送液用カバーを組み立てたものを、ヒートブロック装置（岩城硝子社製、CHT-100）上にセットした。用いた該装置のヒートブロックは、1.5～2.0mlマイクロチューブ用アルミブロックである。

【0046】

検証用モデル検体の準備

上記の温度制御機構の機能検証に利用するモデル検体を、下記するように調製した。モデル標的核酸（遺伝子）として、配列番号1の一本鎖核酸断片と相補的な塩基配列を有する一本鎖核酸断片を合成し、定法に従って5'末端に蛍光色素（ローダミン）を標識した。合成したモデル標的核酸を用いて、以下に示す組成物（モデル検体）を調製した。

【0047】

[モデル検体組成]

【0048】

【表1】

含有成分	含有濃度
モデル標的核酸	10 nM
ニシン精子DNA（超音波破碎済み）	1 μ M相当（平均200bpとして）
NaCl	100mM
pH7 リン酸緩衝液	10mM
ホルムアミド	10%（v/v）

【0049】

ブロッキング／ハイブリダイゼーション

組み立て後、ヒートブロック装置にセットされた遺伝子チップに対して、チュ

ープポンプを用いて、まず、ブロッキング溶液を液室に充填した。ブロッキング液は、生理食塩水（PBS）に2%（w/w）になるように牛血清アルブミン（BSA）を溶解したものをを用いた。遺伝子チップのプローブ固定面と送液用カバーの隙間（液室）にブロッキング液を充填した後、チューブポンプを停止し、排出口側もピンチコックで密閉した。密閉状態とした後、室温で2時間静置した。

【0050】

2時間静置後、ヒートブロックを55℃に予熱した後、排出口のピンチコックを外し、チューブポンプを用いて液導入口から上記モデル検体を送液し、液室内をモデル検体で置換し、充填した。なお、モデル検体液には、遺伝子チップへの充填直前に、95℃、3分の熱変性処理と急冷処理を施してある。遺伝子チップのプローブ固定面と送液用カバーの隙間（液室）内にモデル検体液が充填された後、チューブポンプを停止し、排出口側もピンチコックで密閉した。

この密閉状態を保ったまま、ヒートブロックを55℃に温度調節しつつ、16時間静置した。

【0051】

洗浄

16時間の保温静置後、排出口のピンチコックを外し、以下に示す洗浄液1を液導入口からチューブポンプを用いて送液し、遺伝子チップを洗浄した。洗浄液1の送液量は、1ml/分とし、その間、ヒートブロックの温度は55℃に保持したまま、10分間洗浄を行った。

【0052】

[洗浄液1の組成]

【0053】

【表2】

含有成分	含有濃度
NaCl	1.00mM
pH7 リン酸緩衝液	10mM
ドデシル硫酸ナトリウム	0.1% (w/w)

【0054】

次に、洗浄液1の送液を停止し、ヒートブロックの温度を25℃に変更した。洗浄液1を以下に示す洗浄液2に付け替え、ヒートブロックの温度が25℃で安定したのを確認した後、1ml/分の送液量で洗浄液2を送液し、洗浄を再開し、3分間洗浄を行った。

【0055】

[洗浄液2の組成]

【0056】

【表3】

含有成分	含有濃度
NaCl	1.8g/L
クエン酸ナトリウム・2水和物	0.9g/L
NaOH水溶液	適量 (pH7に調整)

【0057】

乾燥

洗浄操作の終了後、セットアップ済みの遺伝子チップをヒートブロック装置から取り外す。さらに、熱伝導ユニット、送液用カバーを外して、スライド・ガラス状態の遺伝子チップを取り出した。取り出した遺伝子チップは、窒素ガスでブローして乾燥させた。

【0058】

蛍光測定

乾燥した遺伝子チップを、アレイスキャナーGenePix 400B (Axon社製) にセットし、定法に従って、マトリックス状DNAアレイ中の各スポット毎に蛍光測定を行った。具体的には、波長532nmのレーザーを用いて、遺伝子チップのプロープ固定面をスキャンして、モデル標的核酸を標識するローダミンの蛍光を測定した。

【0059】

測定の結果

蛍光測定は、アレイスキャナー付属の解析ソフトウェア (GenePix Pro 3.0) を用いて行った。蛍光量測定は、スキャン解像度 5 ミクロン、スポットの検出はオートアライメントで行い、検出されたスポットの中心部 32 ピクセルの輝度 (蛍光強度) の総和で比較した。

【0060】

配列番号 1 の DNA プローブ・スポットの平均蛍光輝度を 100 とした場合、配列番号 2 の DNA プローブ・スポットでは、40、配列番号 3 の DNA プローブ・スポットでは、8 の蛍光輝度を示した。また、配列番号 1 の DNA プローブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 109%、最小値は、平均値の 93% であった。配列番号 2 の DNA プローブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 111%、最小値は、平均値の 90% であった。配列番号 3 の DNA プローブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 108%、最小値は、平均値の 89% であった。

【0061】

(比較例 1)

実施例 1 と同様に、石英ガラス基板を用いた遺伝子チップを作製した。この遺伝子チップを使用して、市販のハイブリ・カセットとオープンを用いて検出操作を行った。実施例 1 との相違点は、以下の通り。

【0062】

熱伝導ユニット、送液用カバーを用いず、定法に従って、プローブ固定面を市販のカバーガラスで被覆し、ハイブリ・カセットを用いるハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーション反応中の温度制御は、オープンで行った。その後の洗浄では、ウォーターバスを用いて洗浄液の温度制御を行った。

【0063】

測定の結果

標識による蛍光の測定方法・手順は、実施例 1 と同様である。

【0064】

配列番号 1 の DNA プローブ・スポットの平均蛍光輝度を 100 とした場合、配列番号 2 の DNA プローブ・スポットでは、65、配列番号 3 の DNA プロー

ブ・スポットでは、34の蛍光輝度を示した。また、配列番号1のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の121%、最小値は、平均値の82%であった。配列番号2のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の144%、最小値は、平均値の56%であった。配列番号3のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の137%、最小値は、平均値の52%であった。

【0065】

(実施例2)

遺伝子チップの作製

実施例1と同様に作製した。

【0066】

アルミニウム製熱伝導ユニットの作製

図2に示す形状の熱伝導ユニットを、アルミニウムブロックより切削で作製した。作製した熱伝導ユニットのサイズは、遺伝子チップとの狭着面は、27mm×85mm×1.5mm、脚部は、基部は ϕ 6mm、末端部は ϕ 3mm、総高さ11mmの円錐台形とした。脚部の取り付けピッチは、9mmとして、狭着面の裏面側に3列8本で計24本をセットした。狭着面の四隅には、後述する送液用カバーを固定するため、ボルト受穴を設けた。

【0067】

送液用カバーの作製

実施例1と同様のものを作製し、用いた。

【0068】

遺伝子チップの装着

遺伝子チップと、熱伝導ユニット、送液用カバーを、実施例1と同様の手順でセットアップした。

【0069】

遺伝子チップ、熱伝導ユニット、送液用カバーを組み立てたものを、PCR装置(MJ Research社製、PCT-100)の加熱ブロック上にセットした。

【0070】

モデル検体の準備

実施例1と同様に、モデル検体の調製を行った。

【0071】

ブロッキング／ハイブリダイゼーションと洗浄、乾燥

実施例1と同様の条件で行った。

【0072】

蛍光測定、解析の結果

標識による蛍光の測定方法・手順は、実施例1と同様である。

【0073】

配列番号1のDNAプローブ・スポットの平均蛍光輝度を100とした場合、配列番号2のDNAプローブ・スポットでは、42、配列番号3のDNAプローブ・スポットでは、11の蛍光輝度を示した。また、配列番号1のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の107%、最小値は、平均値の94%であった。配列番号2のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の110%、最小値は、平均値の93%であった。配列番号3のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の112%、最小値は、平均値の91%であった。

【0074】

(実施例3)

遺伝子チップの作製

実施例1と同様に作製した。

【0075】

送液用カバーの作製

実施例1と同様のものを作製し、用いた。

【0076】

アルミニウム製受用ユニット板の作製と良熱伝導性材料の調製

アルミニウム製受用ユニット板として、厚さ1.5mmのアルミニウム板を、幅27mm長さ85mmのサイズに切り出し、実施例1で作製した送液用カバー

固定用に四隅にボルトの受穴を設けた。別に、良熱伝導性材料用に、シリコン樹脂コーキング剤に粉末状の銅を 80% (w/w) になるように加え、均一になるようすばやく混練し、熱伝導性コーキング剤を調製した。

【0077】

遺伝子チップの装着

遺伝子チップと、送液用カバー、送液用カバーの受用アルミ板を、下記する手順でセットアップした。

【0078】

まず、受用アルミ板の上面に、耐熱性シリコングリスを薄く塗布した後、遺伝子チップの背面を圧着した。圧着の際、グリスと遺伝子チップ背面との密着性を高めるため、気泡の侵入を生じないように注意した。続いて、送液用カバーを遺伝子チップ表面側、プローブ固定面を覆うように被せ、4本の固定用ボルトによる付加荷重が均一となるように留意しながら締め込み、送液用カバーを固定した。

【0079】

銅粉を混入したシリコン樹脂コーキング剤をPCR装置 (MJ Research社製、PCT-100) のヒートブロック上に適量乗せ、ダミーの送液用カバーの受用アルミ板を用いて必要な大きさに伸ばしてセットした。この伸張された銅粉入りコーキング剤の上に、受用アルミ板を前記コーキング剤と密着するように、遺伝子チップ、送液用カバー、受用アルミ板を組み立てたものを圧着させ、装着を完了した。

【0080】

モデル検体の準備

実施例1と同様に、モデル検体の調製を行った。

【0081】

ブロッキング/ハイブリダイゼーションと洗浄、乾燥

実施例1と同様の条件で行った。

【0082】

蛍光測定、解析の結果

標識による蛍光の測定方法・手順は、実施例 1 と同様である。

【0083】

配列番号 1 の DNA プロブ・スポットの平均蛍光輝度を 100 とした場合、配列番号 2 の DNA プロブ・スポットでは、39、配列番号 3 の DNA プロブ・スポットでは、9 の蛍光輝度を示した。また、配列番号 1 の DNA プロブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 105%、最小値は、平均値の 91% であった。配列番号 2 の DNA プロブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 109%、最小値は、平均値の 95% であった。配列番号 3 の DNA プロブ・スポット、計 48 個内でのバラツキは、最大値は、平均値の 111%、最小値は、平均値の 90% であった。

【0084】

(実施例 4)

遺伝子チップの作製

実施例 1 と同様に作製した。

【0085】

送液用カバーの作製

基本的に実施例 1 と同様のものを作製したが、液導入口と排出口には、フレキシブルチューブ（シリコンチューブ、内径 1mm）を接続し用いた。

【0086】

アルミニウム製受用ユニット板の作製と良熱伝導性材料の調製

アルミニウム製受用ユニット板として、厚さ 1.5 mm のアルミニウム板を、幅 27 mm 長さ 85 mm のサイズに切り出し、実施例 1 で作製した送液用カバー固定用に四隅にボルトの受穴を設けた。別に、良熱伝導性材料用に、シリコン樹脂コーキング剤に粉末状の銅を 80% (w/w) になるように加え、均一になるようすばやく混練し、熱伝導性コーキング剤を調製した。

【0087】

遺伝子チップの装着

実施例 3 と同様に遺伝子チップ、送液カバー受用ユニットをセットした。

【0088】

銅粉を混入したシリコン樹脂コーキング剤をPCR装置(MJ Research社製、PCT-100)のヒートブロック上に適量乗せ、ダミーの送液用カバーの受用アルミ板を用いて必要な大きさに伸ばしてセットした。この伸張された銅粉入りコーキング剤の上に、送液カバーの上面がコーキング剤と密着するように、遺伝子チップ、送液用カバー、受用アルミ板を組み立てたものを厚着し、装着を完了した。この際、液導入口と排出口に接続されたフレキシブルチューブがコーキング剤と送液カバーの密着を妨げないように、また、折れ曲がり等によって送液が妨げられないように注意した。

【0089】

モデル検体の準備

実施例1と同様に、モデル検体の調製を行った。

【0090】

ブロッキング／ハイブリダイゼーションと洗浄、乾燥

実施例1と同様の条件で行った。

【0091】

蛍光測定、解析の結果

標識による蛍光の測定方法・手順は、実施例1と同様である。

【0092】

配列番号1のDNAプローブ・スポットの平均蛍光輝度を100とした場合、配列番号2のDNAプローブ・スポットでは、37、配列番号3のDNAプローブ・スポットでは、10の蛍光輝度を示した。また、配列番号1のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の108%、最小値は、平均値の92%であった。配列番号2のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の111%、最小値は、平均値の94%であった。配列番号3のDNAプローブ・スポット、計48個内でのバラツキは、最大値は、平均値の110%、最小値は、平均値の92%であった。

【0093】

【発明の効果】

本発明においては、遺伝子チップを用いた遺伝子検出操作の際、遺伝子チップ

の温度を制御する手段として、汎用性を有する形状の、熱伝導性に優れた材質を用いた構成される良熱伝導性材料を、基板の背面、もしくは、検出用一本鎖核酸断片を固定化した面の対面に、実質的に基板面全体を覆う、あるいは、狭着される形態で配置することで、基板面全体の面内方向の熱拡散を向上させ、加えて、かかる良熱伝導性材料を介して、熱の授受を行う温度制御手段を利用することで、遺伝子チップ全体を所望の温度に精度良く、再現性良く温度制御することを可能としている。また、かかる温度制御手段は、安価な部材、装置を用いることで構成でき、また、遺伝子チップに利用される基板形状に応じて、簡便に変更可能である。そのため、高い汎用性を有するとともに、この温度制御手段を利用することで、遺伝子検出操作における遺伝子チップ内の温度バラツキも抑制され、測定自体の精度、再現性の向上が図れる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明にかかる温度制御装置に利用される、熱伝導ユニットの一実施態様を模式的に示す図である。

【図 2】

本発明にかかる温度制御装置に利用される、熱伝導ユニットの別の実施態様を模式的に示す図である。

【図 3】

本発明にかかる温度制御装置に利用される、良熱伝導性材料の一実施態様を模式的に示す図である。

【図 4】

本発明にかかる温度制御装置における、遺伝子チップ装着部構成の一実施態様を模式的に示す図である。

【図 5】

本発明にかかる温度制御装置における、遺伝子チップの装着状態の一実施態様を模式的に示す図である。

【符号の説明】

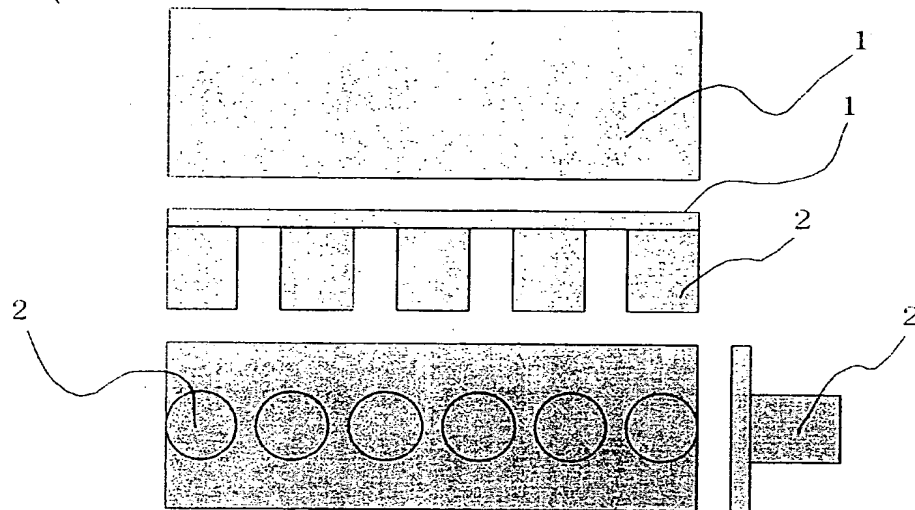
- 1 遺伝子チップ狭着面

- 2 脚部
- 3 ヒートブロック
- 4 遺伝子チップ
- 5 熱伝導性部材（ガム状）
- 6 液導入口
- 7 排出口
- 8 送液用カバー
- 9 遺伝子チップ
- 1 0 熱伝導性ユニット（板状）

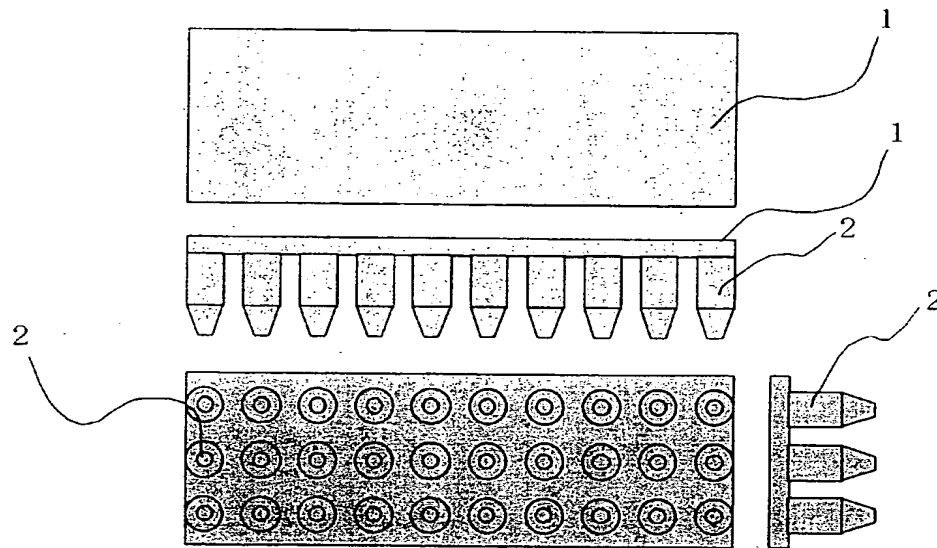
【書類名】

図面

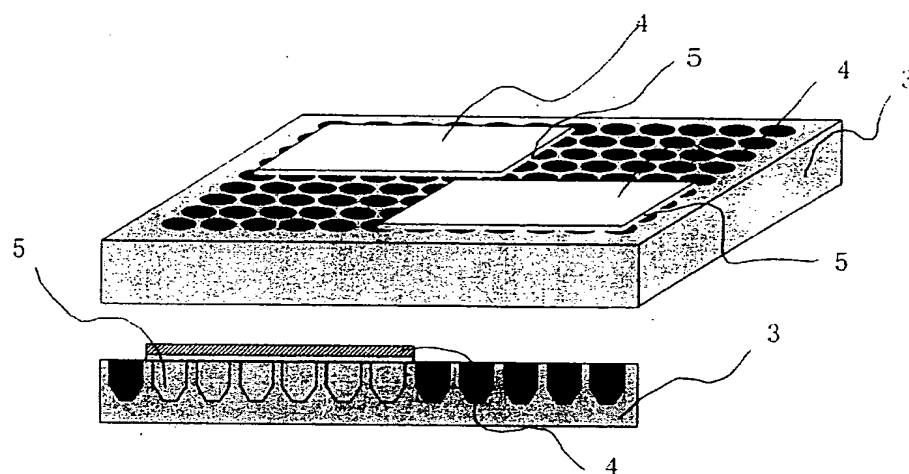
【図 1】



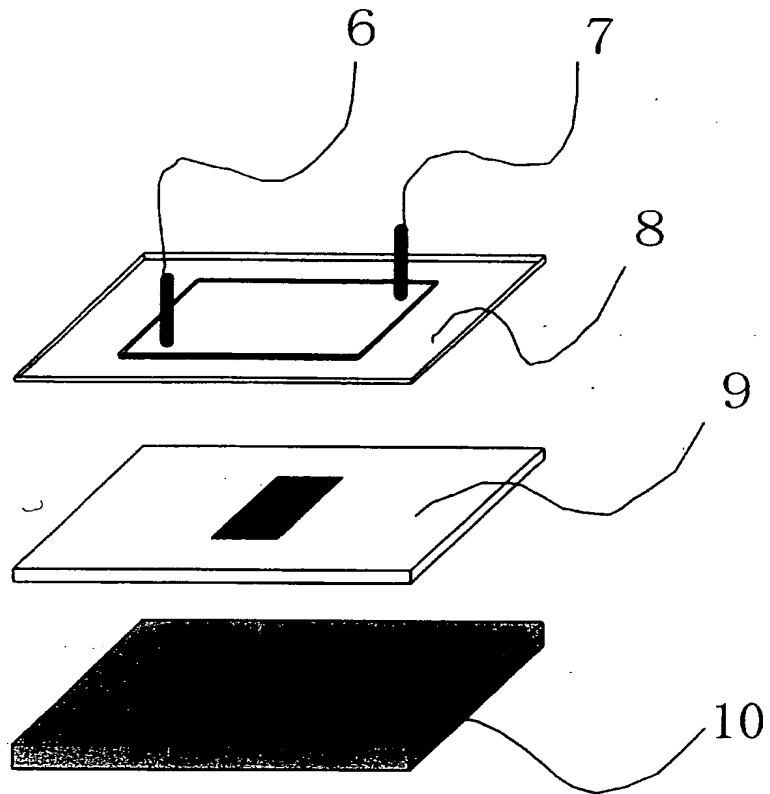
【図 2】



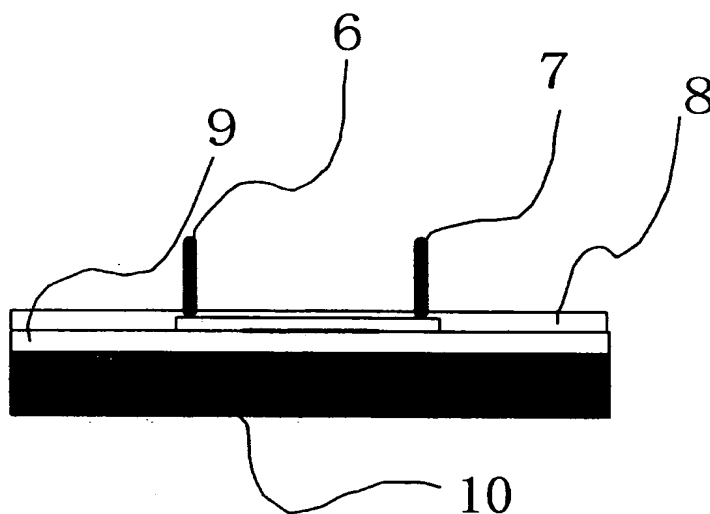
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 種々の遺伝子チップに適用可能であり、加えて、遺伝子チップ全体の温度を高い再現性・均一性で制御することが可能な温度制御手段を具え、さらには、低コスト性をも満足する、核酸プローブ基板を用いた遺伝子の検出、測定に利用される装置、ならびに、該装置を利用して、遺伝子核酸の検出、測定を行う方法を提供する。

【解決手段】 汎用性を有する形状の、熱伝導性に優れた材質を用いた構成される良熱伝導性材料を、遺伝子チップの基板背面、もしくは、検出用一本鎖核酸断片を固定化した面の対面に、実質的に基板面全体を覆う、あるいは、挟着される形態で配置することで、基板面全体の面内方向の熱拡散を向上させ、加えて、かかる良熱伝導性材料を介して、熱の授受を行う。

【選択図】 図 5

特願 2 0 0 2 - 1 8 3 2 4 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 1 0 0 7]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 3 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都大田区下丸子3丁目30番2号

氏 名

キヤノン株式会社